

©Derwent Information

Collagenase inhibitor for preventing and treating periodontal disease, comprises extract of Caesalpinia genus plant as active ingredient

Patent Number : JP2003286179

International patents classification : A61K-008/96; A61K-036/48; A61K-008/97; A61P-001/02; A61P-043/00; A61Q-011/00; A61K-036/185; A61P-001/00

• Abstract :

JP2003286179 A NOVELTY: The collagenase inhibitor comprises extract of Caesalpinia genus plant as an active ingredient.

DESCRIPTION: An INDEPENDENT CLAIM is also included for periodontal disease preventive agent and composition for oral cavity comprising collagenase inhibitor.

ACTIVITY: Antiinflammatory. Secang extract was tested for the growth inhibitory effect with respect to periodontal pathogenic Porphyromonas gingivalis in GAM bouillon culture medium inoculated with Porphyromonas gingivalis (33277 strain). The minimum growth inhibitory concentration with respect to periodontal pathogenic microbe was found to be 3.9 microg/ml.

MECHANISM OF ACTION: Collagenase-Inhibitor. The collagenase inhibitory effect was measured for the Secang extract using Porphyromonas gingivalis produced collagenase solution (1.69 U/ml). 0.1 mg/ml of secang extract exhibited collagenase inhibition effect of 97%.

USE: For preventing and treating periodontal disease (claimed).

ADVANTAGE: The Secang extract exhibits excellent therapeutic efficacy with respect to periodontal pathogenic microbes.

• Publication data :

Patent Family : JP2003286179 A 20031007 DW2003-82 A61K-035/78 Jpn 8p * AP: 2002JP-0090325 20020328

Priority n° : 2002JP-0090325 20020328

Covered countries : 1

Publications count : 1

• Patentee & Inventor(s) :

Patent assignee : (KOBAYASHI SEIYAKU KK

Inventor(s) : KUNITOMO E

• Accession codes :

Accession N° : 2003-885520 [82]

Sec. Acc. n° CPI : C2003-252454

• Derwent codes :

Manual code : CPI: B04-A10 B14-D07C
B14-N06B D08-A05

Derwent Classes : B04 D21

Compound Numbers : RA00GT-K
RA00GT-T RA00GT-U

• Update codes :

Basic update code :2003-82

Others :

ICAA

A61K-008/96 [2006-01 A F I R - -]; A61K-036/48 [2006-01 A L I R - -]; A61K-008/97 [2006-01 A L I R - -]; A61P-001/02 [2006-01 A L I R - -]; A61P-043/00 [2006-01 A L I R - -]; A61Q-011/00 [2006-01 A L I R - -]

ICCA

A61K-008/96 [2006 C F I R - -]; A61K-036/185 [2006 C L I R - -]; A61P-001/00 [2006 C L I R - -]; A61P-043/00 [2006 C L I R - -]; A61Q-011/00 [2006 C L I R - -]

Technology Abstract

BIOLOGY: Preferred Source: Caesalpinia genus plant is Caesalpinia sappan (secang) belonging to leguminosae family. Preferred Properties: Caesalpinia genus plant has inhibitory effect with respect to collagenase produced by Porphyromonas gingivalis.

Keyword Index Terms

[1] 200757-CL; 200757-USE

DCR

200757-K 200757-T 200757-U 200799-K
200799-T 200799-U

© WPI / Thomson

- AN - 2003-885520 [82]
- TI - Collagenase inhibitor for preventing and treating periodontal disease, comprises extract of Caesalpinia genus plant as active ingredient.
- AB - NOVELTY :
The collagenase inhibitor comprises extract of Caesalpinia genus plant as an active ingredient.
- DETAILED DESCRIPTION :
An INDEPENDENT CLAIM is also included for periodontal disease preventive agent and composition for oral cavity comprising collagenase inhibitor.
- ACTIVITY :
Antiinflammatory.
Secang extract was tested for the growth inhibitory effect with respect to periodontal pathogenic Porphyromonas gingivalis in GAM bouillon culture medium inoculated with Porphyromonas gingivalis (33277 strain). The minimum growth inhibitory concentration with respect to periodontal pathogenic microbe was found to be 3.9 Microg/ml.
- MECHANISM OF ACTION :
Collagenase-Inhibitor.
The collagenase inhibitory effect was measured for the Secang extract using Porphyromonas gingivalis produced collagenase solution (1.69 U/ml). 0.1 mg/ml of secang extract exhibited collagenase inhibition effect of 97%.
- USE :
For preventing and treating periodontal disease (claimed).
- ADVANTAGE :
The Secang extract exhibits excellent therapeutic efficacy with respect to periodontal pathogenic microbes.
- BIOLOGY :
Preferred Source: Caesalpinia genus plant is Caesalpinia sappan (secang) belonging to leguminosae family.
Preferred Properties: Caesalpinia genus plant has inhibitory effect with respect to collagenase produced by Porphyromonas gingivalis.
- EXAMPLE :
Pasta for oral cavities was prepared by compounding (in wt.pts) liquid paraffin (13), cetanol (10), glycerol (25), sorbitan mono palmitate (0.6), polyoxyethylene sorbitan mono stearate (5), sodium lauryl sulfate (0.1), benzethonium chloride (0.1), methyl salicylate (0.1), saccharin (0.2), fragrance (0.25), secang extract (2) and water (quantity sufficient). Pasta exhibited excellent therapeutic efficacy with respect to periodontal pathogenic microbes.
- IV - COLLAGENASE INHIBIT PREVENT TREAT PERIODONTAL DISEASE COMPRISE EXTRACT GENUS PLANT ACTIVE INGREDIENT
- PN - JP2003286179 A 20031007 DW200382
- IC - A61K35/78; A61K7/26; A61P1/02; A61P43/00
- ICAI - A61K36/48; A61K8/96; A61K8/97; A61P1/02; A61P43/00; A61Q11/00
- ICCI - A61K36/185; A61K8/96; A61P1/00; A61P43/00; A61Q11/00
- MC - B04-A10 B14-D07C B14-N06B D08-A05
- DC - B04 D21
- PA - (KOBAYASHI SEIYAKU KK
- IN - KUNITOMO E
- AP - JP20020090325 20020328
- PR - JP20020090325 20020328

© TXTJPT / Thomson

JP2003286179 A 20031007

Translated by Thomson Scientific

SUBJECT OF THE INVENTION

The collagenase inhibitor which contains a specific plant extract as an active ingredient is provided.

Moreover, the anti- periodontal-disease agent and composition for oral cavity using a collagenase inhibitory effect are provided.

PROBLEM to be solved

It is a Caesalpini-genus plant as an active ingredient,

Preferably a Secang (Scientific name: *Caesalpinia sappan* L. Leguminosae) extract is used.

DETAILED DESCRIPTION of the INVENTION

[0001] TECHNICAL FIELD OF THE INVENTION

This invention is related to a collagenase inhibitor.

It relates to the collagenase inhibitor which contains a specific plant extract as an active ingredient more specifically.

This invention is further related to the anti- periodontal-disease agent and composition for oral cavity using the collagenase inhibitory effect of this plant extract.

[0002] PRIOR ART

Now, the therapeutic agent of a periodontal disease uses as the antibiotics of the tetracycline type; system; group which has an antimicrobial effect and a collagenase inhibitory effect being in use.

However, a situation is that use is limited in order to be anxious about the appearance of drug resistant bacteria, or generation; occurrence; production of a side effect.

Then, there is no side effect and development of the preventive or therapeutic agent of a periodontal disease with the high safety to a human body is anticipated.

[0003] By the way, *Porphyromonas gingivalis* (*Porphyromonas gingivalis*) is concerned with onset and its advance of a periodontal disease,

It is known that periodontal tissue will be destroyed by the collagenase which it produces.

(Journal * dental * research (J.Dent.Res.) No. 63, pp. 412-421, (1984) and journal * dental * research (J. Dent. Res.) No. 65, pp. 1335-1340, (1986)).

[0004] For this reason, by inhibiting activity of a collagenase, especially the collagenase which a *Porphyromonas gingivalis* produces, a periodontal disease is prevented and it is thought that it can treat again.

[0005] It is not known about a collagenase inhibitory effect existing in the extract of (Unexamined-Japanese-Patent No. 62-148426, Unexamined-Japanese-Patent No. 4-29933, 11-279039) and a Caesalpini-genus plant that a collagenase inhibitory effect exists in plant extracts, such as a schisandra fruit, a gambir, a *Geranium thumbergii* (geranium herb), an arecae semen, the rhubar, ginger, a cassia, a ginseng_root; carrot, a bearberry (*uva-ursi* folium), the senega, a liquorice; liver, a Chinese bellflower (*Platycodon grandiflorum*), a *Paeonia lactiflora*, ginger, and a jujube, conventionally, although known.

[0006] PROBLEM TO BE SOLVED BY THE INVENTION

The objective of the invention is providing the collagenase inhibitor which can be effectively utilized for the prevention or treatment of a periodontal disease.

Moreover, the objective of the invention is providing the anti- periodontal-disease agent using a collagenase inhibitory effect.

The objective of the invention is further providing a composition for oral cavity useful for preventing or improving the oral-cavity disease of a periodontal disease.

[0007] MEANS TO SOLVE THE PROBLEM

The place which had repeated earnestly research constantly that this inventor should solve said task,

To the plant (Secang (Indonesia name), scientific name:Caesalpinia sappan L.Leguminosae) extract which belongs to the Caesalpini genus which already is provided to edible (medicinal) over many years in Indonesia, and by which the safety with respect to a human body is confirmed

It found out that there existed a collagenase inhibitory effect, especially an effect/action which inhibits activity of the collagenase which Porphyromonas-gingivalis:Porphyromonas gingivalis which is periodontal pathogenic bacteria produces, and confirmed that said plant extract was effective as an anti- periodontal-disease agent.

This invention is perfected based on these findings.

[0008] That is, this invention is a collagenase inhibitor hung up over following claim;item 1-3. :

The collagenase inhibitor which contains the extract of the claim;item 1. Caesalpini-genus plant as an active ingredient.

The collagenase inhibitor of claim;item 1 whose claim;item 2. Caesalpini-genus plant is Secang(Scientific name: Caesalpinia sappan L.Leguminosae).

The collagenase inhibitor of claim;item 1 or 2 which is what has an inhibitory effect with respect to the collagenase which claim;item 3. Porphyromonas-gingivalis (Porphyromonas gingivalis) produces.

[0009] Moreover, this invention is an anti- periodontal-disease agent which contains the collagenase inhibitor in any one of said claim;item 1-3 to describe as an active ingredient.

Said anti- periodontal-disease agent can also be specifically put in another way as follows. :

The anti- periodontal-disease agent which contains the extract of a claim;item 4-1. Caesalpini-genus plant as an active ingredient.

The anti- periodontal-disease agent of the claim;item 4-1. description whose claim;item 4-2. Caesalpini-genus plant is Secang(Scientific name: Caesalpinia sappan L.Leguminosae).

The anti- periodontal-disease agent as described in claim;item 4-1.-4-2. which is what has an inhibitory effect with respect to the collagenase which claim;item 4-3. Porphyromonas-gingivalis (Porphyromonas gingivalis) produces.

[0010] This invention is further a composition for oral cavity containing the collagenase inhibitor in any one of said claim;item 1-3 to describe.

Said composition for oral cavity can also be specifically put in another way as follows. :

The composition for oral cavity which contains the extract of a claim;item 5-1. Caesalpini-genus plant as an active ingredient.

Claim;item 5 whose claim;item 5-2. Caesalpini-genus plant is Secang(Scientific name: Caesalpinia sappan L.Leguminosae) - Composition for oral cavity as described in 1.

The composition for oral cavity as described in claim;item 5-1.-5-2. which is what has an inhibitory effect with respect to the collagenase which claim;item 5-3. Porphyromonas-gingivalis (Porphyromonas gingivalis) produces.

[0011] EMBODIMENT of the Invention

(A) Collagenase inhibitor

Secang (Scientific name: *Caesalpinia sappan* L. Leguminosae) used as a raw material plant of an extract in this invention is a plant which belongs to a bean family (Leguminosae) (Leguminosae) *Caesalpinia* genus.

Said plant is used from ancient times more by the treatment of enteritis, a dysentery, etc. in tradition as an astringent or an antidiarrheal in the Indonesia district,

Safety is confirmed experientially.

[0012] The collagenase inhibitor of this invention contains the whole plant of said plant, or its partial (For example, a root, a stalk, a leaf, a fruit (seed), a floral bud, a bark, a crown gall, a xylem/wooden part, a core material, etc.) solvent extract as an active ingredient.

The plant region used for extraction will not be limited especially if it is the region which has a collagenase inhibitory activity.

However, especially a xylem/wooden part can be used suitably.

[0013] It may attach the whole plant of said plant, or its one part to extraction operation as remaining as it is or a crushed material, and may attach it to extraction operation as the shape of a grinding powder as required after drying.

[0014] Especially as a solvent used for said extraction, it does not limit but alcohol, such as a lower alcohol and a polyhydric alcohol, other nonpolar solvents, and a polar solvent can be used widely.

As a lower alcohol, they are C1-C4 alcohol, such as methanol, ethanol, a propanol and isopropyl alcohol, a butanol, more specifically;

Glycerol, polyethyleneglycol, etc. can be mentioned as a polyhydric alcohol.

As another nonpolar solvent -- unsaturated hydrocarbons, such as saturated hydrocarbons, such as a pentane, a hexane, a heptane, an octane, nonane, a decane, or a hexene, and a heptene, etc. -- moreover, water, acetone, ethyl ether, an ethyl acetate, methyl acetate etc. is used as a polar solvent.

These solvent may be used independently and can also be used in combination of 2 or more types.

For example, after carrying out degreasing extraction processing by the nonpolar solvent, extraction processing may be carried out with various arbitrary solvent, and extraction processing of the case of a fatty raw material etc. can also be carried out using a hydration organic solvent.

Preferably, they are lower alcohols, such as water, and ethanol, a propanol, and isopropyl alcohol, and these mixtures.

[0015] The method generally used can be adopted especially as extracting method, without limiting.

A limit is not carried out.

For example, the method of immersing by they are a whole plant or a part in a solvent,

Preferably -- xylem/wooden parts (remaining as it is or carelessness, fragment thing) or those dry crushed-material (Powder etc.) -- a maceration -- it digested etc.,

The method to extract and filter and to obtain an extract while heating and stirring,

Or the percolation method etc. can be mentioned.

[0016] After it removes a solid substance by filtration or centrifugation as required, according to the aspect of use, it may be used as it is, or the obtained extract distills, it may partial-concentrate, or it may dry and a solvent may be used for it.

Moreover, even if it wash/cleans, refine/purifies and uses concentration thru/or after drying and this concentration thru/or dried product with an undissolved solvent, it can melt/dissolve or suspend and this can also be used for a still more suitable solvent.

Moreover, the purification method commonly used in the extract, for example, a countercurrent distribution method, a liquid chromatography, etc. are used,

The fraction which has a collagenase inhibitory activity can be acquired and refine/purified, and can also be used.

Furthermore, in this invention (for example), a solvent extract obtained by the above can also be used as a plant extract dried product by usual means of a drying under reduced pressure and freeze-dried etc.

[0017] In addition, (Nagai et al., inflammation 4, 123 (1984), etc.) which can measure the collagenase inhibitory activity of a plant extract according to the conventional method used in this industry, and can be evaluated -- it can implement simple using a commercially available collagenase-activity measurement kit.

The plant extract used in this invention (Secang extract),

It has an inhibitory activity with respect to the collagenase which Porphyromonas-gingivalis (Porphyromonas gingivalis) which is preferably periodontal pathogenic bacteria produces.

The inhibitory activity with respect to this Porphyromonas-gingivalis production collagenase can be measured and evaluated according to the method of describing in the EXPERIMENT mentioned later specifically.

[0018] The collagenase inhibitor of this invention contains the extract of said Secang as an active ingredient.

It can utilize effectively as an anti-periodontal-disease agent which prevents generation/occurrence/production and its advance of a periodontal disease, or improves a periodontal disease again by mix/blending as a component of various compositions for oral cavity, such as foodstuffs, a quasi-drug, or a pharmaceutical.

Moreover, it is known that a collagenase will generally be concerned in ageing and the rheumatism of the skin.

(J. Enzyme Inhibition, 2.1 (1987), Arthritis Rheum., 20, 1231 (1977)).

The collagenase inhibitor of this invention has the effect/action which suppresses a collagenase.

It may be able to utilize also for prevention or improvement of ageing of the skin, a rheumatism, etc. from this.

[0019] In addition, the collagenase inhibitor of this invention may consist only of said Secang extract, and may contain arbitrary support/carriers and additives with which use is accepted in the field of foodstuffs, the quasi-drug, or the pharmaceutical as other components.

In the case of the latter, the quantity of the Secang extract mix/blended into a collagenase inhibitor is not limited especially as long as the collagenase inhibitor obtained has a collagenase inhibitory activity based on a Secang extract.

Specifically, a limit is not carried out.

However, it is at least 0.0001weight% about the inside of 100 weight% of collagenase inhibitors, and a Secang extract (dried-product conversion),

Preferably it is 0.0001 to 25 weight%,

It can prepare so that it may contain at 0.001 to 10weight% of a ratio more preferably.

[0020] (B) Anti-periodontal-disease agent

A periodontal disease is the inflammatory oral-cavity disease derived from bacteria,

The increase in periodontal pathogenic bacteria, a bacterial penetration/invasion in a structure/tissue, a bacterial host response depended infected, etc. are the factor.

Porphyromonas-gingivalis (Porphyromonas gingivalis) is mentioned as what is most seen as a hopeful as a pathogenic microbe of an adult periodontal disease, and it is reported that high frequency isolate/separates from a periodontal disease person's periodontal-pocket deep part.

This microbe produces degradation enzymes, such as A collagenase, Phospholipase A, an alkali phosphatase and an acid phosphatase,

Among them, a collagenase decompose/degrades the collagen of periodontal tissue,

It is mentioned the direct factor which guide/induces a structure/tissue destruction.

Therefore,

while restraining growth of the pathogenic microbe of a periodontal disease for prevention and the treatment of a periodontal disease, it is important for them to inhibit the pathogenesis sex factor.

[0021] The anti- periodontal-disease agent of this invention utilizes the collagenase inhibitory effect which the plant extract of Secang mentioned above has, especially the inhibitory effect with respect to the collagenase which periodontal pathogenic bacteria :Porphyromonas gingivalis produces,

Onset and its advance of a periodontal disease are prevented,

Or a periodontal disease is improved.

A Secang extract is contained as an active ingredient.

[0022] In addition, the anti- periodontal-disease agent of this invention may consist only of said Secang extract, and may contain arbitrary support/carriers and additives with which use is accepted in the field of foodstuffs, the quasi-drug, or the pharmaceutical as other components, especially the support/carrier and additive with which the application to an oral composition or a composition for oral cavity is accepted.

In the case of the latter, the quantity of the Secang extract mix/blended into an anti- periodontal-disease agent is not limited especially as long as the anti- periodontal-disease agent obtained has a collagenase inhibitory activity based on a Secang extract.

Specifically, it is at least 0.0001weight% normally about the inside of 100 weight% of anti- periodontal-disease agents, and a Secang extract (dried-product conversion),

Preferably it is 0.0001 to 25 weight%,

It can prepare so that it may contain at 0.001 to 10weight% of a ratio more preferably.

[0023] (C) Composition for oral cavity

The composition for oral cavity of this invention utilized the inhibitory effect with respect to the collagenase which periodontal pathogenic bacteria :Porphyromonas gingivalis of the Secang extract mentioned above produces.

The Secang extract mentioned above is contained as a component.

[0024] The quantity of the Secang extract mix/blended with a composition for oral cavity is not limited especially as long as a composition for oral cavity has a collagenase inhibitory activity.

Specifically, it is 0.0001 weight % or more normally about the inside of 100 weight% of compositions for oral cavity, and a Secang extract (dried-product conversion),

Preferably it is 0.001 weight % or more,

It can prepare so that it may contain at a ratio of 0.01 weight % or more more preferably.

In addition, from the point of the effect of this invention called an anti- periodontal-disease effect;action, especially the upper limit of the mixture ratio of a Secang extract is not limited.

An upper limit can be defined from stability of a composition for oral cavity, a relationship with another component, etc., and can illustrate 25 weight% by dried-product conversion of a Secang extract among 100 weight% of compositions for oral cavity normally.

Préferably it is 10 weight%.

[0025] In addition, in this invention, with a composition for oral cavity, although used within an oral cavity like the thing and dentifrice;toothbrushing which are orally ingested like food and drink, or a mouse wash, both are contained.

[0026] They are various foodstuffs, such as the trochiscus, chewing gum, a candy, a fruit gum, chocolate, juice, specifically as a composition for oral cavity, for example.;

Toothbrushing;dentifrice agent (the letter of kneading, liquid, powder solid type

)

Mouse spray etc. in-mouth refrigerant, pharmaceuticals, such as a peptizing agent, the trochiscus, the dermatologic paste for oral cavities, a gargling agent, a syrup formulation, or quasi-drug;

)

Cosmetics in an oral cavity, such as a toothbrushing;dentifrice agent, mouthwash, and mouse rinse, can be mentioned.

Preferably, foodstuffs, such as trochiscus, chewing gum, and a candy, and a toothbrushing;dentifrice agent, mouse spray, mouthwash, and mouse rinse etc. pharmaceutical, a quasi-drug, or the cosmetics in an oral cavity can be mentioned.

Especially these forms and formulations are not limited, but can be arbitrarily defined according to a kind.

[0027] The composition for oral cavity of this invention can also be mix;blended as another component combining components; such as anti- caries agents, such as public knowledge or antimicrobial (For example, pathogenic periodontal or the periodontal growth prevention agents with respect to caries property bacteria, such as a P.gingivalis microbe, an S.mutans microbe, and an S.sobrinus microbe etc.) which can become well-known in the future, and an anti- GTase agent, or an antiinflammatory agent, unless the effect of this invention is barred.

The chlorhexidine hydrochloride, cetyl pyridinium choride, sorbic acid, hinokitiol etc. as an antimicrobial;

The dextranas, a mutanase, the mono fluoro sodium phosphate, sodium fluoride, a fluorination 1st tin etc. as an anti- caries agent;

Moreover, a lysozyme chloride, a glycyrrhetic acid, a glycyrrhetic-acid dipotassium etc. can be illustrated as an antiinflammatory agent.

[0028] In addition to said Secang extract (a collagenase inhibitor, anti- periodontal-disease agent), the composition for oral cavity of this invention can be prepared using the various component normally mix;blended with a composition for oral cavity according to the kind of composition for oral cavity to be used.

[0029] For example, abrasives, such as when a composition for oral cavity is a tooth paste, they are dibasic calcium phosphate, a calcium carbonate, insoluble metaphosphoric acid sodium, an amorphous silica, and aluminium oxide. ;

Carboxymethylcellulose, caking additives, such as a hydroxyethyl cellulose, an alginate, a carrageenan, gum arabic, polyvinyl alcohol ;

Polyethyleneglycol, viscous agents, such as sorbitol, glycerol, a propylene glycol ;

A sodium lauryl sulfate, foaming agents, such as a dodecylbenzene sodium sulphonate, hydrogenation coconut fatty-acid mono gouy ceride mono sodium sulfate, lauryl sulfo sodium acetate, N- lauroyl sarcosine acid sodium, N- acyl glutamate, sucrose fatty acid ester, etc. can be mentioned.

Furthermore, fragrance/flavors, such as menthol used normally, and a corrigent or a sweetening agent, antiseptic/preservative, etc. can also be mix/blended.

The component of a conventional method can be used together also about the case of foodstuffs, such as mouthwashes, such as a mouse wash, and a chewing gum.

In addition, as a sweetening agent by which a combined use mixing/blending is carried out, caries property is low, what is not is preferable, for example, D-xylose, a xylitol, a saccharin sodium, an Aspartame, a trehalose etc. can be mentioned suitably.

[0030] EXAMPLES

Hereafter, a manufacture example, an EXPERIMENT, and an Example demonstrate this invention in detail.

This invention is not limited at all by this Example etc.

Manufacture example

With respect to 100g of ground materials of a Secang(Scientific name: *Caesalpinia sappan* L.Leguminosae) xylem/wooden part, a triple quantity of a hexane is added and it extracts at room temperature for 24 hours,

It filtered.

The 1 more--fold quantity hexane was added to the filtration residue, stirring and filtration were performed, and the sample was degreased.

The degreased sample performed extraction in 5--fold quantity ethanol after drying for room temperature 48 hours.

Concentration and lyophilization were performed for the extract which has filtered this in the evaporator, and 4.26g (henceforth a Scang extract) of plant extracts was obtained with the dry solid form.

[0031] Experiment 1

About the Scang extract prepared by said manufacture example, the growth inhibitory effect with respect to a periodontal pathogenic *Porphyromonas gingivalis* was measured.

[0032] Specifically, a Scang extract is first added to GAM bouillon culture medium (GAM bouillon 59g, 1000 ml of purified waters) at a ratio which becomes 1 mg/ml,

By diluting said prepared solution in order by the GAM bouillon culture medium, the double dilution series was created on the 48 hole micro plate.

(2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512, 1024 times dilution).

A *Porphyromonas-gingivalis*(*Porphyromonas gingivalis*) (33277 strain/stock of ATCC) culture/cultivation fungus/microbe liquid is added to each prepared well at 10% of a ratio,

It statically cultured on anaerobic conditions for three days by 37 degrees C.

Subsequently, from the presence or absence of growth of a microbe, the minimum growth inhibitory concentration of a Scang extract was investigated.

Consequently, the one to 256 times dilution solution of 1 mg/ml of Scang extracts.

WHEREIN:

As for the *Porphyromonas gingivalis*, growth was not recognized.

(The minimum growth inhibitory concentration: 3.9 micro-g/ml).

From this, it was confirmed that the Scang extract has strong antimicrobial property (growth inhibitory effect) with respect to a periodontal pathogenic *Porphyromonas gingivalis*.

[0033] Experiment 2

The inhibitory effect with respect to a periodontal pathogenic *Porphyromonas-gingivalis* production collagenase was require|calculated by making into a test sample the Scang extract prepared by the manufacture example.

[0034] The collagenase inhibitory effect was evaluated using commercially available collagenase-activity measurement kit (R Q kit CLN-100, the product made from Collagen Technical Study session).

Specifically, a fluorescent-labeling collagen is made into a substrate, and after modify|denaturing selectively the decomposition product which reacts with a collagenase and is produced in the presence of a test sample at 35 degrees C, it is extracted by ethanol,

The collagenase inhibitory activity of a test body was computed by measuring the fluorescence intensity of the extracted decomposition product.

Namely, the collagenase-activity inhibition rate was require|calculated by making the percentage reduction of the collagenase activity in test sample existence into an inhibition rate.

[0035] (a) Preparation of a collagenase solution

The collagenase solution which *Porphyromonas-gingivalis* (*Porphyromonas gingivalis*) produces was prepared with the following method.

[0036] *Porphyromonas-gingivalis* (*Porphyromonas gingivalis*) microbe ATCC 33277 are inoculated to blood flat-plate culture medium (Tri petit CASE * \ * broth 40g, hemin 5 mg, menadione 0.5 mg, 100 ml of horse defibrillated bloods, 900 ml of purified waters),

It culture|cultivates anaerobically for four days,

Subsequently, the obtained microbe is inoculate|vaccinated to liquid medium (GAM bouillon 59g, 1000 ml of purified waters) for enzyme extraction,

It culture|cultivated anaerobically for three days at 37 more degrees C.

The obtained culture solution is centrifuged,

Ammonium sulfate processing of the supernatant liquid was carried out 80%, and ammonium sulfate fractions (deposit) were collected 80% by centrifugation (12000*G, 20 minutes).

This fraction is melt|dissolved in 250 ml (pH7.5) of 0.05M tris-hydrochloric acid buffer which contains 5-mM calcium chloride,

It dialyzed with respect to this buffer.

The ultrafiltration of the liquid in a transparent liquid was carried out, and it used to the following experiment by making (0.22 micrometer, MILIPORE) and this into a *Porphyromonas-gingivalis* production collagenase solution.

[0037] (b) A measurement of a collagenase inhibitory effect

The collagenase inhibitory effect was measured about the Scang extract prepared by the manufacture example.

Porphyromonas-gingivalis production collagenase solution (1.69U/ml) 100 microliter and 200 microliter of fluorescent-labeling collagen solutions concretely prepared in said (a) first, and 100 microliter (dilution liquid of a Scang extract) of test samples are mixed, and it may be a total of 400 microliter,

This is made to react at 35 degrees C for 2 hours.

The fluorescence intensity of a decomposition product is measured after reaction,

The collagenase activity was computed.

In addition, the test sample (dilution liquid of a Scang extract) used what prepared the Scang extract (freeze-dried matter) prepared by the manufacture example as that the final concentration in a test sample might become 0.1 mg/ml, 0.01 mg/ml, or 0.001 mg/ml with the 0.05M tris-hydrochloric acid buffer (pH7.5) which contains 5-mM calcium chloride.

Moreover, leupeptin -containing solution (0.1 mg/ml, 0.01 mg/ml, or 0.001 mg/ml) by which replacing with said test sample solution (dilution liquid of a Scang extract) as a comparison test, and having a collagenase inhibitory activity, using 100 microliter (pH7.5) of 0.05M tris-hydrochloric acid buffer which replaces with said test sample solution (dilution liquid of a Scang extract) as a control test, and contains 5-mM calcium chloride (control) is known is used,

The collagenase activity was measured in the same manner to the above.

The collagenase-activity inhibition rate of a Scang extract was require;calculated from the following formula;equation.

(A part for collagen decomposition;degradation of 1U=1 micro-g /).

[0038]

[0039] A test result is shown to Table 1.

In addition, the collagenase activity of control was 1.69 U/ml.

[0040] <table>

[0041] From this result, Scang extracts increase in number also to a leupeptin,

It turned out that it has a very strong collagenase inhibitory effect.

[0042] <Example>

Hereafter, the example of an application of the Scang extract (a collagenase inhibitor, anti- periodontal-disease agent) of this invention is described as an Example.

In addition, unless otherwise stated, the unit of each prescription means weight part.

Moreover, the Scang extract used the freeze-dried matter.

[0043]

[0044]

[0045] Example 3 The in-mouth refrigerant which carried out the glyocalyx;sugar_coating of the 200 weight-parts of the glyocalyx;sugar_coating tablet agent parts in 130 weight-parts of glyocalyx;sugar_coating parts was created.

[0046]

[0047]

[0048]

[0049]

[0050]

[0051]

[0052]

[0053] Example 10 Pasta for oral cavities

Liquid-paraffin 13.00

Cetanol 10.00

Glycerol 25.00

Sorbitan mono palmitate 0.60

Polyoxyethylene sorbitan mono stearate 5.00

Sodium-lauryl-sulfate 0.10

Benzethonium-chloride 0.10

Methyl salicylate 0.10

Saccharin 0.20

Fragrance;flavor 0.25

Scang extract 2.00

Water remainder

Total 100.00.

[0054] ADVANTAGE OF THE INVENTION

The collagenase inhibitor of this invention contains the extract of a specific plant called Secang as an active ingredient.

Said especially plant extract is excellent in the effect;action which inhibits the collagenase which Porphyromonas-gingivalis (Porphyromonas gingivalis) which is a periodontal pathogenic microbe produces.

From this, it can utilize effectively as the anti- periodontal-disease agent which has the effect;action which prevents generation;occurrence;production and its advance of a periodontal disease, or improves a periodontal disease, and a component of a composition for oral cavity by mix;blending as a component of various compositions for oral cavity, such as foodstuffs, a quasi-drug, or a pharmaceutical.

That is,

the anti- periodontal-disease agent or composition for oral cavity of this invention is useful for generation;occurrence;production of a periodontal disease, prevention of the advance, or improvement of a periodontal disease based on the Porphyromonas-gingivalis production collagenase inhibitory activity of a Secang extract.

1. The collagenase inhibitor which contains the extract of a Caesalpinia-genus plant as an active ingredient.

2. A Caesalpinia-genus plant is Secang(Scientific name: Caesalpinia sappan L.Leguminosae).

The collagenase inhibitor of Claim 1.

3. It has an inhibitory effect with respect to the collagenase which Porphyromonas-gingivalis (Porphyromonas gingivalis) produces.

The collagenase inhibitor of Claim 1 or 2.

4. The anti- periodontal-disease agent which contains the collagenase inhibitor in any one of Claim 1 thru/or 3 as an active ingredient.

5. The composition for oral cavity containing the collagenase inhibitor in any one of Claim 1 thru/or 3.

295

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2003-286179

(P2003-286179A)

(43) 公開日 平成15年10月7日 (2003.10.7)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マ-ト (参考)
A 6 1 K 35/78		A 6 1 K 35/78	J 4 C 0 8 3
7/26		7/26	4 C 0 8 8
A 6 1 P 1/02		A 6 1 P 1/02	
43/00	1 1 1	43/00	1 1 1
審査請求 未請求 請求項の数 5 O L (全 8 頁)			

(21) 出願番号 特願2002-90325 (P2002-90325)

(22) 出願日 平成14年3月28日 (2002.3.28)

(71) 出願人 000186588

小林製薬株式会社

大阪府大阪市中央区道修町四丁目3番6号

(72) 発明者 国友 栄治

大阪府茨木市豊川一丁目30番3号 小林製
薬株式会社中央研究所内

(74) 代理人 100065215

弁理士 三枝 英二 (外8名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 コラゲナーゼ阻害剤及びその利用

(57) 【要約】

【課題】 特定の植物抽出物を有効成分とするコラゲナーゼ阻害剤を提供する。またコラゲナーゼ阻害作用を利用した抗歯周病剤及び口腔用組成物を提供する。

【解決手段】 有効成分としてジャケツイバラ属植物、好ましくはSecang (学名: *Caesalpinia sappan* L. Leguminosae.) の抽出物を用いる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 ジャケツイバラ属植物の抽出物を有効成分とするコラゲナーゼ阻害剤。

【請求項2】 ジャケツイバラ属植物がSecang（学名：Caesalpinia sappan L. Leguminosae.）である請求項1記載のコラゲナーゼ阻害剤。

【請求項3】 ボルフィロモナス・ジンジバリス（*Porphyromonas gingivalis*）が産生するコラゲナーゼに対して阻害作用を有するものである請求項1または2に記載のコラゲナーゼ阻害剤。

【請求項4】 請求項1乃至3のいずれかに記載のコラゲナーゼ阻害剤を有効成分とする抗歯周病剤。

【請求項5】 請求項1乃至3のいずれかに記載のコラゲナーゼ阻害剤を含有する口腔用組成物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、コラゲナーゼ阻害剤に関する。より詳細には、特定の植物抽出物を有効成分とするコラゲナーゼ阻害剤に関する。さらに本発明は、かかる植物抽出物のコラゲナーゼ阻害作用を利用した抗歯周病剤及び口腔用組成物に関する。

【0002】

【従来の技術】 現在、歯周病の治療剤には、抗菌作用とコラゲナーゼ阻害作用を有するテトラサイクリン系の抗生物質が主流として使用されているが、薬剤耐性菌の出現や副作用の発生が懸念されるため、使用が制限されているのが実情である。そこで、副作用がなく人体への安全性が高い歯周病の予防または治療剤の開発が期待されている。

【0003】 ところで、歯周病の発症やその進行には、ボルフィロモナス・ジンジバリス（*Porphyromonas gingivalis*）が関与しており、それが産生するコラゲナーゼによって歯周組織が破壊されることが知られている（ジャーナル・デンタル・リサーチ（J.Dent.Res.）No.63, pp.412-421, (1984）、及びジャーナル・デンタル・リサーチ（J.Dent.Res.）No.65, pp.1335-1340, (1986））。

【0004】 このためコラゲナーゼ、特にボルフィロモナス・ジンジバリスが産生するコラゲナーゼの活性を阻害することによって、歯周病を予防しまた治療することが可能であると考えられる。

【0005】 従来よりゴミシ、アセンヤク、ゲンノショウコ、ビンロウジ、大黄、生姜、桂皮、人參、ウワウルシ、セネガ、カンゾウ、キキョウ、シャクヤク、ショウキョウ、タイソウなどの植物抽出物中にコラゲナーゼ阻害作用があることは知られているが（特開昭62-148426号、特開平4-29933号、特開平11-279039号公報）、ジャケツイバラ属植物の抽出物にコラゲナーゼ阻害作用があることについては知られていない。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】 本発明の目的は、歯周

病の予防または治療に有効に利用できるコラゲナーゼ阻害剤を提供することである。また、本発明の目的はコラゲナーゼ阻害作用を利用した抗歯周病剤を提供することである。さらに本発明の目的は歯周病といった口腔疾患を予防しまたは改善するのに有用な口腔用組成物を提供することである。

【0007】

【課題を解決するための手段】 本発明者は、上記課題を解決すべく日夜鋭意研究を重ねていたところ、すでにインドネシアで多年にわたって食用（薬用）に供され、人体に対する安全性が確認されているジャケツイバラ属に属する植物（Secang（インドネシア名）、学名：Caesalpinia sappan L. Leguminosae.）の抽出物に、コラゲナーゼ阻害作用、特に歯周病原性細菌であるボルフィロモナス・ジンジバリス（*Porphyromonas gingivalis*）が産生するコラゲナーゼの活性を阻害する作用があることを見だし、当該植物抽出物が抗歯周病剤として有効であることを確認した。本発明は、かかる知見に基づいて完成されたものである。

【0008】 すなわち本発明は、下記項1～3に掲げるコラゲナーゼ阻害剤である：

項1. ジャケツイバラ属植物の抽出物を有効成分とするコラゲナーゼ阻害剤。

項2. ジャケツイバラ属植物がSecang（学名：Caesalpinia sappan L. Leguminosae.）である項1に記載のコラゲナーゼ阻害剤。

項3. ボルフィロモナス・ジンジバリス（*Porphyromonas gingivalis*）が産生するコラゲナーゼに対して阻害作用を有するものである項1または2に記載のコラゲナーゼ阻害剤。

【0009】 また本発明は、上記項1～3のいずれかに記載するコラゲナーゼ阻害剤を有効成分とする抗歯周病剤である。当該抗歯周病剤は具体的には下記のように言い換えることもできる：

項4-1. ジャケツイバラ属植物の抽出物を有効成分とする抗歯周病剤。

項4-2. ジャケツイバラ属植物がSecang（学名：Caesalpinia sappan L. Leguminosae.）である項4-1.記載の抗歯周病剤。

項4-3. ボルフィロモナス・ジンジバリス（*Porphyromonas gingivalis*）が産生するコラゲナーゼに対して阻害作用を有するものである項4-1.～4-2.に記載の抗歯周病剤。

【0010】 さらに本発明は、上記項1～3のいずれかに記載するコラゲナーゼ阻害剤を含有する口腔用組成物である。当該口腔用組成物は具体的には下記のように言い換えることもできる：

項5-1. ジャケツイバラ属植物の抽出物を有効成分とする口腔用組成物。

項5-2. ジャケツイバラ属植物がSecang（学名：Caesal

pinia sappan L. Leguminosae.)である項5-1.に記載の口腔用組成物。

項5-3. ポルフィロモナス・ジンジバリス (*Porphyromonas gingivalis*) が産生するコラゲナーゼに対して阻害作用を有するものである項5-1.~5-2.に記載の口腔用組成物。

【0011】

【発明の実施の形態】(A) コラゲナーゼ阻害剤

本発明において抽出物の原料植物として使用される *Secang* (学名: *Caesalpinia sappan* L. Leguminosae.) は、マメ科 (Leguminosae) ジャケツイバラ属に属する植物である。当該植物は、インドネシア地方において古来より収斂薬や止瀉薬として腸炎や赤痢などの治療に伝承的に使用されており、経験的に安全性が確認されている。

【0012】本発明のコラゲナーゼ阻害剤は、上記植物の全草またはその一部(例えば根、茎、葉、果実(種子)、花蕾、樹皮、虫えい、木部、心材等)の溶媒抽出物を有効成分とするものである。抽出に用いられる植物部位は、コラゲナーゼ阻害活性を有する部位であれば特に制限されないが、特に木部を好適に使用することができる。

【0013】当該植物の全草又はその一部はそのまま若しくは破砕物として抽出操作に付してもよいし、また乾燥後、必要に応じて粉碎粉体状として抽出操作に付してもよい。

【0014】上記抽出に用いられる溶媒としては、特に制限されず、低級アルコールや多価アルコール等のアルコール類、その他、非極性溶媒および極性溶媒を広く用いることができる。より具体的には低級アルコールとしては、メタノール、エタノール、プロパノール及びイソプロピルアルコール、ブタノール等の炭素数1~4のアルコール; 多価アルコールとしては、グリセリン、ポリエチレングリコール等を挙げることができる。その他の非極性溶媒としては、ペンタン、ヘキサン、ヘプタン、オクタン、ノナン、デカン等の飽和炭化水素あるいはヘキセン、ヘプテン等の不飽和炭化水素等が、また極性溶媒としては、水、アセトン、エチルエーテル、酢酸エチル、酢酸メチル等が使用される。これらの溶媒は、単独で用いてもよく、二種以上を組み合わせ使用することもできる。例えば脂肪分の多い原料などの場合は、非極性溶媒で脱脂抽出処理した後、各種任意の溶媒で抽出処理してもよいし、また含水有機溶媒を用いて抽出処理することもできる。好ましくは、水やノール、エタノールやプロパノール及びイソプロピルアルコール等の低級アルコール、並びにこれらの混合物である。

【0015】抽出方法としては、特に制限されることがなく一般に用いられる方法を採用することができる。制限はされないが、例えば溶媒中に全草若しくは部分、好ましくは木部(そのまま若しくは粗末、細切物)、又はこれらの乾燥破砕物(粉末など)を冷浸、温浸等によって

浸漬する方法、加温し攪拌しながら抽出を行い、濾過して抽出液を得る方法、またはパーコレーション法等を挙げることができる。

【0016】得られた抽出液は、必要に応じてろ過または遠心分離によって固形物を除去した後、使用の態様に応じて、そのまま用いるか、または溶媒を留去して一部濃縮若しくは乾燥して用いてもよい。また濃縮乃至は乾燥後、該濃縮乃至は乾燥物を非溶解性溶媒で洗浄して精製して用いても、またこれを更に適当な溶剤に溶解もしくは懸濁して用いることもできる。また、抽出液を、慣用されている精製法、例えば向流分配法や液体クロマトグラフィー等を用いて、コラゲナーゼ阻害活性を有する画分を取得、精製して使用することも可能である。更に、本発明においては、例えば、上記のようにして得られた溶媒抽出液を、減圧乾燥、凍結乾燥等の通常的手段により植物エキス乾燥物として使用することもできる。

【0017】なお、植物抽出物のコラゲナーゼ阻害活性は、当業界において使用される常法に従って測定し評価することができ(永井ら、炎症4, 123 (1984)等)、簡便には、市販のコラゲナーゼ活性測定キットを用いて実施することができる。本発明において使用される植物抽出物(*Secang*抽出物)は、好ましくは歯周病原性細菌であるポルフィロモナス・ジンジバリス (*Porphyromonas gingivalis*) が産生するコラゲナーゼに対して阻害活性を有するものである。かかるポルフィロモナス・ジンジバリス産生コラゲナーゼに対する阻害活性は、具体的には後述する試験例に記載する方法に従って測定し評価することができる。

【0018】本発明のコラゲナーゼ阻害剤は上記*Secang*の抽出物を有効成分とするものであり、食品、医薬部外品又は医薬品などの各種口腔用組成物の成分として配合されることにより、歯周病の発生やその進行を防止したりまた歯周病を改善する抗歯周病剤として有効に利用することができる。また、コラゲナーゼは一般に皮膚の老化やリウマチに関与することが知られている(J. Enzyme Inhibition, 2.1 (1987), Arthritis Rheum., 20, 1231 (1977))。本発明のコラゲナーゼ阻害剤は、コラゲナーゼを抑制する作用を有することから、皮膚の老化やリウマチ等の予防または改善にも利用できる可能性がある。

【0019】なお、本発明のコラゲナーゼ阻害剤は、上記*Secang*抽出物だけからなるものであってもよいし、また他成分として食品、医薬部外品又は医薬品の分野で使用が許容されている任意の担体や添加剤を含有していてもよい。後者の場合、コラゲナーゼ阻害剤中に配合される*Secang*抽出物の量は、得られるコラゲナーゼ阻害剤が*Secang*抽出物に基づいてコラゲナーゼ阻害活性を有する限り特に制限されない。具体的には、制限はされないが、コラゲナーゼ阻害剤100重量%中、*Secang*抽出物(乾燥物換算)を少なくとも0.0001重量%、好ま

しくは0.0001~25重量%、より好ましくは0.001~10重量%の割合で含むように調製することができる。

【0020】(B) 抗歯周病剤

歯周病は細菌由来の炎症性口腔疾患であり、歯周病原性細菌の増加、細菌の組織内侵入や感染による宿主応答等がその要因となっている。成人性歯周病の病原菌として最も有力視されているものとしてポルフィロモナス・ジンジバリス (*Porphyromonas gingivalis*) が挙げられ、歯周病患者の歯周ポケット深部から高頻度に分離されることが報告されている。かかる菌は、コラゲナーゼ、フォスフォリパーゼA、アルカリフォスファターゼ、酸フォスファターゼなどの分解酵素を産生し、中でもコラゲナーゼは歯周組織のコラーゲンを分解し、組織破壊を導く直接的な因子といわれている。よって、歯周病の予防及び治療には、歯周病の病原菌の生育を抑えるとともに、その病因子因子を阻害することが重要である。

【0021】本発明の抗歯周病剤は、前述するSecangの植物抽出物が有するコラゲナーゼ阻害作用、特に歯周病原性細菌：*Porphyromonas gingivalis* が産生するコラゲナーゼに対する阻害作用を利用して、歯周病の発症やその進行を予防したり、または歯周病を改善するものであり、Secang抽出物を有効成分とするものである。

【0022】なお、本発明の抗歯周病剤は、上記Secang抽出物だけからなるものであってもよいし、また他成分として食品、医薬部外品又は医薬品の分野で使用が許容されている任意の担体や添加剤、特に経口組成物や口腔用組成物への適用が許容されている担体や添加剤を含有していてもよい。後者の場合、抗歯周病剤中に配合されるSecang抽出物の量は、得られる抗歯周病剤がSecang抽出物に基づいてコラゲナーゼ阻害活性を有する限り特に制限されない。具体的には、通常抗歯周病剤100重量%中、Secang抽出物(乾燥物換算)を少なくとも0.0001重量%、好ましくは0.0001~25重量%、より好ましくは0.001~10重量%の割合で含むように調製することができる。

【0023】(C) 口腔用組成物

本発明の口腔用組成物は、前述するSecang抽出物の、歯周病原性細菌：*Porphyromonas gingivalis* が産生するコラゲナーゼに対する阻害作用を利用したものであり、前述するSecang抽出物を成分として含有するものである。

【0024】口腔用組成物に配合されるSecang抽出物の量は、口腔用組成物がコラゲナーゼ阻害活性を有する限り特に制限されない。具体的には、通常口腔用組成物100重量%中、Secang抽出物(乾燥物換算)を0.0001重量%以上、好ましくは0.001重量%以上、より好ましくは0.01重量%以上の割合で含むように調製することができる。なお、抗歯周病作用という本発明の効果の点からは、Secang抽出物の配合割合の上限は特

に制限されるものではない。上限は口腔用組成物の安定性や他の成分との関係等から定めることができ、通常口腔用組成物100重量%中、Secang抽出物の乾燥物換算で25重量%を例示することができる。好ましくは10重量%である。

【0025】なお、本発明において口腔用組成物とは、例えば飲食物のように経口的に摂取されるものと並びに歯磨きやマウスウォッシュのように口腔内で用いられるものの双方を含むものである。

【0026】口腔用組成物として具体的には、例えばトローチ、チューインガム、キャンディ、グミキャンディ、チョコレート、ジュース等の各種食品；歯磨剤(練り状、液体状、粉末固形状)、マウススプレーなどの口中清涼剤、咀嚼剤、トローチ剤、口腔用パスタ剤、うがい剤、シロップ剤等の医薬品又は医薬部外品；歯磨剤、マウスウォッシュ、マウスリンスなどの口腔内化粧品を挙げることができる。好ましくは、トローチ、チューインガム及びキャンディ等の食品、並びに歯磨剤、マウススプレー、マウスウォッシュ及びマウスリンスなどの医薬品、医薬部外品または口腔内化粧品を挙げることができる。これらの形態並びに剤形は、特に制限されず、種類に応じて任意に定めることができる。

【0027】本発明の口腔用組成物は、本発明の効果を妨げない限り、他の成分として、公知若しくは将来公知となり得る抗菌剤(例えば、*P.gingivalis*菌、*S.mutans*菌、*S.sobrinus*菌等の歯周病原性または歯蝕性細菌に対する生育阻止剤等)、抗G Tase剤等の抗歯蝕剤、若しくは消炎剤などの成分と組み合わせて配合することもできる。抗菌剤としては、塩酸クロルヘキシジン、塩化セチルピリジニウム、ソルビン酸、ヒノキチオール等が；抗歯蝕剤としてはデキストラナーゼ、ムタナーゼ、モノフルオロリン酸ナトリウム、フッ化ナトリウム、フッ化第一錫等が；また消炎剤としては塩化リゾチーム、グリチルレチン酸、グリチルリチン酸二カリウム等を例示することができる。

【0028】本発明の口腔用組成物は、上記のSecang抽出物(コラゲナーゼ阻害剤、抗歯周病剤)に加えて、適用する口腔用組成物の種類に応じて、口腔用組成物に通常配合される各種成分を用いて調製することができる。

【0029】例えば口腔用組成物が練歯磨の場合、第2リン酸カルシウム、炭酸カルシウム、不溶性メタリン酸ナトリウム、非晶質シリカ、酸化アルミニウム等の研磨剤；カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシエチルセルロース、アルギン酸塩、カラゲナン、アラビアゴム、ポリビニルアルコール等の粘結剤；ポリエチレングリコール、ソルビトール、グリセリン、プロピレングリコール等の粘潤剤；ラウリル硫酸ナトリウム、ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム、水素添加ココナッツ脂肪酸モノグイセリドモノ硫酸ナトリウム、ラウリルスルホ酢酸ナトリウム、N-ラウロイルサルコシン酸ナトリウム

ム、N-アシルグルタミン酸塩、ショ糖脂肪酸エステル等の発泡剤等を挙げることができる。また更に、通常用いられるメントール等の香料並びに矯味剤又は甘味剤、防腐剤等を配合することもできる。マウスウオッシュ等の洗口剤並びにチューイングガム等の食品の場合についても、常法の成分を併用することができる。なお、併用配合される甘味剤としては、う蝕性が低いか又ははないものが好ましく、例えばD-キシロース、キシリトール、サッカリンナトリウム、アスパルテーム、トレハロースなどを好適に挙げることができる。

【0030】

【実施例】以下、製造例、試験例及び実施例により本発明をより詳細に説明するが、本発明はかかる実施例等によって何ら制限されるものではない。

製造例

Secang (学名: *Caesalpinia sappan* L. Leguminosae.) の木部の粉砕物100gに対して、3倍量のヘキサンを加え、室温で24時間抽出し、ろ過した。ろ過残渣に更に1倍量のヘキサンを加え攪拌、ろ過を行ない試料の脱脂を行なった。脱脂された試料は乾燥後、5倍量のエタノールにて、室温48時間抽出を行なった。これをろ過し得られた抽出液をエバポレーターにて濃縮、凍結乾燥を行ない、乾燥固形形態で植物抽出物(以下、Scang抽出物という)4.26gを得た。

【0031】試験例1

上記製造例で調製したScang抽出物について、歯周病原性ポルフィロモナス・ジンジバリスに対する生育阻害作用を測定した。

【0032】具体的には、まずGAMブイヨン培地(GAMブイヨン59g、精製水1000ml)にScang抽出物を1mg/mlとなるような割合で添加し、調製した当該溶液をGAMブイヨン培地で順次希釈することにより、48穴マイクロプレートに2倍希釈系列を作成した(2、4、8、16、32、64、128、256、512、1024倍希釈)。調製した各ウェルにポルフィロモナス・ジンジバリス(*Porphyromonas gingivalis*) (ATCC 33277株)培養菌液を10%の割合で添加し、37℃で3日間、嫌気条件で静置培養した。次いで菌の生育の有無から、Scang抽出物の最小生育阻害濃度を調べた。その結果、Scang抽出物1mg/mlの1~256倍希釈溶液において、ポルフィロモナス・ジンジバリスは生育が認められなかった(最小生育阻害濃度: 3.9μg/ml)。このことから、Scang抽出物は歯周病原性ポルフィロモナス・ジンジバリスに対して強い抗菌性(生育阻害作用)を有していることが確認された。

【0033】試験例2

製造例で調製したScang抽出物を被験試料として、歯周病原性ポルフィロモナス・ジンジバリス産生コラゲナーゼに対する阻害作用を求めた。

【0034】コラゲナーゼ阻害作用は、市販のコラゲナーゼ活性測定キット(コラゲノキットCLN-100、コラー

ゲン技術研修会(株)製)を用いて評価した。具体的には、蛍光標識コラゲンを基質とし被験試料の存在下でコラゲナーゼと反応して生じる分解物を、35℃で選択的に変性させた後、エタノールで抽出し、抽出された分解物の蛍光強度を測定することにより被験体のコラゲナーゼ阻害活性を算出した。すなわち、被験試料存在下でのコラゲナーゼ活性の減少率を阻害率としてコラゲナーゼ活性阻害率を求めた。

【0035】(a) コラゲナーゼ溶液の調製

ポルフィロモナス・ジンジバリス(*Porphyromonas gingivalis*) が産生するコラゲナーゼ溶液を以下の方法によって調製した。

【0036】ポルフィロモナス・ジンジバリス(*Porphyromonas gingivalis*) 菌ATCC 33277を血液平板培地(トリプチケイス・ソイ・ブロス40g、ヘミン5mg、メナジオン0.5mg、ウマ脱繊維血液100ml、精製水900ml)に植菌して、4日間嫌氣的に培養を行い、次いで得られた菌を酵素抽出用液体培地(GAMブイヨン59g、精製水1000ml)に接種し、さらに37℃で3日間嫌氣的に培養した。得られた培養液を遠心して、上清を80%硫酸アンモニウム処理して遠心(12000×G、20分)により80%硫酸アンモニウム画分(沈殿物)を収集した。この画分を5mM 塩化カルシウムを含む0.05M トリス-塩酸緩衝液(pH 7.5) 250mlに溶解し、同緩衝液に対して透析を行った。透析内液を限外濾過して(0.22μm、MILIPORE)、これをポルフィロモナス・ジンジバリス産生コラゲナーゼ溶液として以下の実験に使用した。

【0037】(b) コラゲナーゼ阻害作用の測定

製造例で調製したScang抽出物についてコラゲナーゼ阻害作用を測定した。具体的にはまず上記(a)で調製したポルフィロモナス・ジンジバリス産生コラゲナーゼ溶液(1.69U/ml) 100μl、蛍光標識コラゲン溶液200μl及び被験試料(Scang抽出物の希釈液) 100μlを混合して計400μlとし、これを35℃で2時間反応させて、反応後に分解物の蛍光強度を測定して、コラゲナーゼ活性を算出した。なお、被験試料(Scang抽出物の希釈液)は、製造例で調製したScang抽出物(凍結乾燥物)を5mM 塩化カルシウムを含む0.05M トリス-塩酸緩衝液(pH 7.5)で被験試料中の最終濃度が0.1mg/ml、0.01mg/mlまたは0.001mg/mlとなるように調製したものを使用した。また、対照試験として上記被験試料溶液(Scang抽出物の希釈液)に代えて5mM 塩化カルシウムを含む0.05M トリス-塩酸緩衝液(pH 7.5) 100μlを用いて(コントロール)、また比較試験として上記被験試料溶液(Scang抽出物の希釈液)に代えてコラゲナーゼ阻害活性を有することが知られているロイペプチン含有溶液(0.1mg/ml、0.01mg/mlまたは0.001mg/ml)を用いて、上記と同様にコラゲナーゼ活性を測定した。Scang抽出物のコラゲナー

ゼ活性阻害率は、以下の式から求めた（1 U = 1 μ gの
コラーゲン分解/分）。

【0038】

【数1】

コラーゲンゼ活性阻害率（%）＝

$$\frac{\text{コントロールのコラーゲンゼ活性(U)} - \text{植物抽出物添加時のコラーゲンゼ活性(U)}}{\text{コントロールのコラーゲンゼ活性(U)}} \times 100$$

【0039】試験結果を表1に示す。なお、コントロールのコラーゲンゼ活性は1.69U/mlだった。

【0040】

【表1】

被験試料中の濃度	コラーゲンゼ阻害率（%）	
	Scang 抽出物	Leupeptin
0.1 mg/ml	9.7	6.6
0.01 mg/ml	7.7	5.8
0.001 mg/ml	4.6	4.6

【0041】この結果から、Scang抽出物はロイペプチンにも増して、極めて強いコラーゲンゼ阻害作用を有することが分かった。

【0042】＜実施例＞以下、本発明のScang抽出物（コラーゲンゼ阻害剤、抗菌周病剤）の適用例を実施例として記載する。なお、各処方単位の単位は特に言及しない限り、重量部を意味するものである。またScang抽出物は凍結乾燥物を使用した。

【0043】

実施例1 チューインガム

炭酸カルシウム	5.0
Scang抽出物	2.0
ガムベース	30.0
エリスリトール	10.0
キシリトール	40.0
マルチトール	12.5
香料	0.5
計	100.0。

【0044】

実施例2 タブレット

Scang抽出物	2.0
ポリデキストロース	7.0
シュガーエステル	2.0
香料	1.0
キシリトール	15.0
パラチノース	残部
計	100.0。

【0045】実施例3 糖衣タブレット錠剤部分200重量部を、糖衣部130重量部で糖衣した口中清涼剤を作成した。

【0046】

錠剤部分

Scang抽出物	2.00
シュガーエステル	1.00
グアーガム	0.20
アスパルテーム	0.01
香料	1.00
パラチノース	残部
計	100.00

糖衣部

リン酸3カルシウム	1.00
アスパルテーム	0.01
アラビアガム	0.50
香料	0.40
カルバナワックス	0.10
シェラック	0.20
マルチトール	残部
計	100.00。

【0047】

実施例4 キャンディ

Scang抽出物	2.0
キシリトール	8.0
マルチトール	10.0
アスパルテーム	0.1
香料	0.2
パラチニット	残部
計	100.0。

【0048】

実施例5 練歯磨き

第2リン酸カルシウム	30.0
グリセリン	10.0
ソルビトール	20.0
カルボキシメチルセルロースナトリウム	1.0
ラウリル硫酸ナトリウム	1.5
カラギーナン	0.5
サッカリンナトリウム	0.1
香料	1.0
安息香酸ナトリウム	0.3

Scang抽出物	2.0
水	残部
計	100.0。

【0049】

実施例6 練歯磨き

ラウリル硫酸ナトリウム	0.80
ラウリル酸ジエタノールアミド	1.00
プロピレングリコール	3.00
60% ソルビット液	35.00
メチルパラベン	0.20
ブチルパラベン	0.01
サッカリンナトリウム	0.15
ゼラチン	0.30
香料	0.60
アルギン酸ナトリウム	0.90
安息香酸ナトリウム	0.10
水酸化アルミニウム	45.00
モノフルオリン酸Na	0.76
Scang抽出物	2.0
水	残部
計	100.00。

【0050】

実施例7 洗口液

エタノール	10.00
グリセリン	5.00
クエン酸	0.01
クエン酸ナトリウム	0.10
ポリオキシエチレン硬化ひまし油	0.50
パラオキシ安息香酸メチル	0.10

香料	0.20
Scang抽出物	2.00
水	残部

計 100.00。

【0051】

実施例10 口腔用パスタ

流動パラフィン	13.00
セタノール	10.00
グリセリン	25.00
ソルビタンモノパルミテート	0.60
ポリオキシエチレンソルビタンモノステアレート	5.00
ラウリル硫酸ナトリウム	0.10
塩化ベンゼトニウム	0.10
サリチル酸メチル	0.10
サッカリン	0.20
香料	0.25
Scang抽出物	2.00
水	残部
計	100.00。

【0054】

【発明の効果】本発明のコラゲナーゼ阻害剤はSecangという特定の植物の抽出物を有効成分とするものである。当該植物抽出物は、特に歯周病原性菌であるポルフィロ

実施例8 洗口液

ラウリル硫酸ナトリウム	0.80
ラウリル酸ジエタノールアミド	0.80
グリセリン	12.00
サッカリンナトリウム	0.20
ハッカ油	0.80
アルギニン	0.10
リン酸水素二ナトリウム	0.50
リン酸水素二カリウム	0.08
Scang抽出物	2.00
水	残部
計	100.00。

【0052】

実施例9 トローチ

マルチトール	21.00
アラビアガム	1.50
ショ糖脂肪酸エステル	2.50
粉末香料	1.00
クエン酸	4.00
Scang抽出物	2.00
キシリトール	残部
計	100.00。

【0053】

モナス・ジンジバリス (*Porphyromonas gingivalis*) が産生するコラゲナーゼを阻害する作用に優れていることから、食品、医薬部外品又は医薬品などの各種口腔用組成物の成分として配合されることにより、歯周病の発

生やその進行を防止したりまたは歯周病を改善する作用を有する抗菌周病剤として、また口腔用組成物の成分として有効に利用することができる。すなわち、本発明の抗菌周病剤または口腔用組成物は、Secang抽出物のポリ

フィロモナス・ジンジバリス産生コラゲナーゼ阻害活性に基づいて、歯周病の発生やその進行の防止または歯周病の改善に有用である。

フロントページの続き

Fターム(参考) 4C083 AA111 AA112 AB222 AB292
AB472 AC022 AC072 AC102
AC122 AC132 AC302 AC432
AC442 AC482 AC692 AC782
AC862 AD222 AD272 AD302
AD352 AD422 BB41 CC41
DD22 DD23 EE33
4C088 AB59 AC01 AC02 AC06 AC11
BA08 CA09 CA11 NA14 ZA67
ZC20